

# 白虫小茧蜂的离体培养\*

谢中能 李理 谢以权

(广东省昆虫研究所, 广州)

**摘要** 白虫小茧蜂 *Bracon greeni* Ashmead 是紫胶白虫的重要天敌。本文首次报道用人工培养基成功地使白虫小茧蜂从卵离体培养至成虫。所用培养基的成分为昆虫血淋巴、鸡蛋黄和牛奶液。每100ml培养基含庆大霉素4—6万单位。培养基用帕拉芬膜(parafilm)加工成“模拟寄主”。幼虫存活率、化蛹率和成虫羽化率分别为85—91%、70—71%和67—69%。卵期20—22小时, 幼虫期历时3—4天, 预蛹和蛹期历时7—8天, 一个发育周期需11—13天。成虫体长雌3.2—4.5mm, 雄2.5—4.0mm, 雌雄比约1:3。和用天然寄主白虫来繁殖的白虫小茧蜂相比, 发育速度大体上相当, 体型稍大, 雌性比低。成虫能交配产卵, 并在大蜡螟幼虫和模拟寄主上繁育出雌雄后代。但成本有待降低, 所用离体培养技术也有待改进。

**关键词** 白虫小茧蜂 紫胶白虫 离体培养 人工培养基 模拟寄主

白虫小茧蜂 *Bracon greeni* Ashmead 属膜翅目、姬蜂总科、小茧蜂科, 是一种颇有价值的幼虫体外寄生天敌。利用白虫小茧蜂防治紫胶白虫 *Eulemma amabilis* Moore, 在我国已收到良好的效果(刘崇乐等, 1963; 广东昆虫所资源室, 1975)。然而, 目前繁殖白虫小茧蜂大多采用紫胶白虫、棉红铃虫或大蜡螟幼虫作寄主, 操作上环节多, 费工时, 成本高, 难以满足生产上的大量需求。大量离体培养是解决这些存在问题的—条值得探索的新途径。

用人工饲料离体培养寄生天敌昆虫的研究, 在不同程度上获得成功的, 国内外均有若干报道。其中既有卵寄生昆虫(湖北协作组, 1979; 丁德诚等, 1980; 刘志诚等, 1986), 幼虫寄生昆虫(Nettles Jr., 等, 1980), 也有蛹寄生昆虫(Bronskill 等, 1957; Hoffman 等, 1973; House, 1978; Yazgan, 1972); 除了内寄生昆虫之外, 还有外寄生种类(陆文卿等, 1981; Thompson, 1975)。

为了更充分地开发利用这种天敌昆虫资源, 我们开展了白虫小茧蜂离体培养研究。本文首次报道用人工培养基成功地使白虫小茧蜂从卵离体培养至成虫。

## 材 料 和 方 法

**一、蜂种** 白虫小茧蜂从广东高州县胶林采集, 成虫用15%蜜糖水喂饲, 实验室饲养繁殖用大蜡螟老熟幼虫做寄主。大蜡螟幼虫用人工饲料饲养。

**二、蜂卵的收集** 接蜂前将大蜡螟幼虫逐头放入用擦镜纸做成的小圆筒(直径0.3—0.4cm, 长约2cm)里, 折口和两端用普通胶水粘合封盖, 以防幼虫逃走, 保证寄生。接蜂

本文于1987年4月收到。

\* 本课题为国家自然科学基金资助项目。

时将大蜡螟幼虫(连纸筒)5头放入装有白虫小茧蜂雌雄各5头的玻璃管(6×8cm)内,接蜂3—4小时后取出,停止寄生,15—16小时后将纸筒剪开,以便蜂卵收集。

**三、培养基的制备** 培养基含昆虫血淋巴、鸡蛋黄和牛奶液(全脂奶粉 10g/100ml 水),每 100ml 培养基含庆大霉素 4—6 万单位。各成分的含量如表 1。昆虫血淋巴采自柞蚕蛹,采血前置柞蚕蛹于热水(60—61℃)处理 10 分钟,以防黑化。鸡蛋黄取自市售新鲜鸡蛋。牛奶液在电热磁搅拌下煮沸 10 分钟灭菌。制备培养基过程在无菌室进行。制备好的培养基低温(−20℃)保存备用。

表 1 培养基成分和含量\*

成分 \ 编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
昆虫血淋巴	100	80	65	50	40	30	20	80	80
鸡蛋黄	0	10	17.5	25	30	35	40	20	0
牛奶液	0	10	17.5	25	30	35	40	0	20

\* 每 100ml 培养基含庆大霉素 4—6 万单位。

**四、“模拟寄主”的制作** 裁一小块(约 1×1cm)帕拉吩膜(parafilm),均匀地用力拉开,使之张开成为大约 2×4cm 大小,浸入 75% 乙醇 15 分钟消毒,用灭菌的吸水纸吸干,然后对折成两层,挤压两侧边缘,帕拉吩膜靠自身粘合即成信封状小袋,用吸管自袋口注入 0.5ml 培养基,挤压封口,最后做成一只内盛培养基的小囊(约 1×1cm);因为用以代替寄主育蜂,故称人工模拟寄主。操作过程在无菌室进行。

**五、离体培养** 将一个模拟寄主放入一只玻璃培养皿(直径 5cm)中央,用小手术刀或解剖针将接近孵化(产下 18—20 小时)的蜂卵 6 粒从被寄生的大蜡螟幼虫体表移到模拟寄主上面,加盖,置 24—28℃、相对湿度 70—80% 条件下培养,让其生长发育,直至羽化成虫。每天或隔天观察一次,并进行记录。

## 结果与讨论

我们对不同组合的几种培养基分别进行了培养试验,试验结果(表 2)表明,白虫小茧蜂可以用人工模拟寄主从卵离体培养至成虫。所试培养基中,以 2 号和 8 号最好,幼虫存活率为 85—91%,化蛹率 70—71%,成虫羽化率 67—69%。离体培养出来的成蜂能交配,有正常的生殖能力。我们将其中雌雄蜂各 5 头放入一只 6×6cm 的玻璃管内,从成蜂羽化的第二天到第五天每天按常法接入大蜡螟幼虫 2 头,结果产卵 45 粒,最后得子蜂雌 4 头,雄 16 头;再用大蜡螟幼虫接蜂,将所得蜂卵 36 粒移到 6 个模拟寄主(4 号培养基)培养,结果得离体培养雌蜂 3 头,雄蜂 7 头。

白虫小茧蜂卵期发育 20—22 小时,离体培养中幼虫期历时 3—4 天,预蛹和蛹期历时 7—8 天,从卵到成虫一个发育周期需时 11—13 天,雌雄个体没有畸型现象,体长分别为

表2 白虫小茧蜂在不同培养基上的生长发育

培养基编号	模拟寄主 (个)	接入蜂卵 (粒)	存活幼虫 (头)(%)	化蛹 (头)(%)	成虫 (头)(%)	备注
1	11	66	36 55	0 0	0 0	其中 4 头蛹无茧
2	26	156	142 91	111 71	107 69	
3	20	120	92 77	29 24	29 24	
4	12	72	53 74	24 33	14 19	
5	16	96	65 68	28 29	20 21	其中 1 头蛹无茧
6	10	60	40 67	1 1.7	0 0	
7	8	48	24 50	0 0	0 0	
8	10	60	51 85	42 70	40 67	
9	10	60	48 80	33 55	25 42	

3.2—4.5 和 2.5—4.0mm, 雌雄比约 1:3。和用天然寄主来繁殖的白虫小茧蜂相比, 发育速度大体上相当, 体型略大, 但雌性比较低(表 3)。

培养基中昆虫血淋巴显然是小茧蜂完成生长发育的必须成分, 而且含量多寡对生长发育也有重要影响。假如固定蛋黄和牛奶液的比例为 1:1, 那末, 当血淋巴含量在 20% 时, 幼虫存活率只有 50% (表 2 试验 7), 幼虫孵出头一两天略见长大, 随后便停滞下来, 5—7 天后全部死亡。显然, 培养基不能满足幼虫期生长发育的需要。当血淋巴含量为 30% 时, 只有个别化蛹(表 2 试验 6)。当血淋巴含量在 40—65% 时, 幼虫存活率和化蛹率都明显增加, 分别达到 68—77% 和 24—33%, 成虫羽化率 19—24%, 但彼此之间差别不甚大(表 2 试验 3、4、5)。当血淋巴含量增加到 80% 时, 如上所述, 幼虫存活率、化蛹率和成虫率又进一步提高(表 2 试验 2、8), 其中有 4 头蛹特别小, 化蛹前未能吐丝结茧, 最后羽化出 4 头小雄蜂。然而, 用 100% 血淋巴培养的白虫小茧蜂也不能完成正常的发育, 甚至不能化蛹(表 2 试验 1); 只有当血淋巴掺入一定量的蛋黄或牛奶液时, 才能培养出成蜂。可能血淋巴中缺少这种茧蜂生长发育所需的某些物质, 加入蛋黄或牛奶之后, 这些物质得到了增补。由此看来, 蛋黄或者牛奶也是培养基中不可缺少的成分。

表3 模拟寄主和天然寄主培养的白虫小茧蜂比较\*

寄 主	发 育 速 度				成 虫	
	卵期 (小时)	幼虫期 (天)	预蛹—蛹期 (天)	发育周期 (天)	体长(毫米) ♀/♂	性比 ♀:♂
模拟寄主	20—22	3—4	7—8	11—13	3.2—4.5/2.5—4.0	1:3
白虫幼虫**	20.0—22.4	2.8—3.9	5.9—7.9	9.9—15.2	2.9—3.8/2.2—3.4	1—4:1

\* 培养温度 24—28℃。

\*\* 资料引自刘崇乐等(1963)。

分析 1、3、4、5、6 和 7 号培养基的试验结果可以看出, 造成成虫产率低的主要环节在化蛹。至少半数以上的幼虫不能成蛹, 这反映了这些培养基存在缺陷, 譬如营养成分比

例不够平衡。

白虫小茧蜂对加工培养基所用薄膜的理化性质有选择性。我们比较过多种聚乙烯和聚丙烯薄膜(厚度均为 30—40 $\mu\text{m}$ ),以及帕拉吩膜(厚约 110 $\mu\text{m}$ ),试验结果表明,用这些薄膜加工做成的模拟寄主,不管用的是何种培养基,小茧蜂均不吸食,除非用针尖在上面扎数个小孔,让培养基缓慢溢出。拉薄聚乙烯和聚丙烯膜无助于解决幼虫拒食问题,但拉薄的帕拉吩膜则不然,小茧蜂幼虫可以吸食。根据观察,帕拉吩膜被拉得越薄越好,只要不撕破。

在自然界里,白虫小茧蜂附着于寄主幼虫体表生活,咬破寄主体壁取食体液。人工培养时可以生活在很不相同的条件之下。我们曾经用凹玻片进行开放式培养,具体做法是加 0.5ml 培养基于凹玻片的凹窝(直径 1.5 厘米,深 0.3cm,圆底)内,培养基的表面铺一块大小相当的滤纸,然后将蜂卵移到滤纸上面,孵出的幼虫直接同培养基接触,小茧蜂同样可以取食,生长和完成发育,获得同模拟寄主培养类似的结果。但开放式培养容易污染微生物,需要每天或隔天更换新鲜培养基。由此可见,幼虫可以忍受高度潮湿的条件,方便幼虫取食是提高存活率的一个重要因素。

化蛹之前,老熟幼虫喜欢爬到模拟寄主底下或附近吐丝结茧。少数个体不能正常结茧却仍然可以最后发育成蜂,可能是因为末龄幼虫离开饲料过早,被迫提前结束取食而导致丝腺发育不全的结果。

白虫小茧蜂离体培养的初步成功,增加了这种天敌昆虫大量离体培养和利用的可能性。然而,从经济角度上考虑,作为大量生产用培养基材料,昆虫血淋巴的含量有待降低,或者寻找廉价的物质来代替。培养基加工所用薄膜和加工方法也有待进一步优选和改进。要使离体培养成为有真正意义的大量繁蜂的实用手段,特别有待解决的是如何诱导这种寄生天敌直接产卵到人工模拟寄主上的问题。目前,我们的研究正在朝着解决这些问题的方向继续进行。

## 参 考 文 献

- 刘崇乐、蔡剑萍、王金言、王金弟 1963 白虫小茧蜂的生物学研究和林间寄生诱集试验结果。昆虫学报 12(5-6): 523—37。
- 广东昆虫所资源室 1975 利用白虫小茧蜂防治紫胶白虫的林间试验结果。昆虫学报 18(2): 141—50。
- 湖北赤眼蜂人工模拟寄卵研究协作组 1979 赤眼蜂人工模拟寄卵的研究。昆虫学报 22(3): 301—9。
- 丁德诚、邱鸿贵、黄昌本 1980 螟卵啮小蜂的离体培养。昆虫学研究集刊第一集(上海昆虫研究所编)53—8 页。
- 陆文卿、郎 所 1981 金小蜂的离体培养。昆虫天敌 3(1-2): 23—5。
- 刘志诚、王志勇、孙姒幼、刘建峰、杨五烘 1986 利用人工寄主卵繁殖平腹小蜂防治荔枝蜂。生物防治通报 2(2): 54—8。
- Bronskill, J. F. and H. L. House 1957 Notes on rearing a pupal endoparasite *Pimpla turionellae* (L.) on unnatural food. Can. Ent. 89: 483.
- Hoffman, J. D., C. M. Ignoffo and S. H. Long 1973 In vitro cultivation of an endoparasitic wasp, *Pteromalus puparum*, Ann. Entomol. Soc. Amer. 66: 633—4.
- House, H. L. 1978 An artificial host: Encapsulated synthetic medium for in vitro oviposition and rearing the endoparasitoid, *Itopectis conquisitor*. Can. Entomol. 110(3): 331—3.
- Nettles Jr., C. W., C. M. Wilson, and S. W. Ziser 1980 A diet and methods for the in vitro rearing of the tachinid, *Eucelatoria* sp. Ann. Entomol. Soc. Amer. 73(2): 180—4.
- Strand, M. R. and Vinson, S. B. 1983 Stimulation of oviposition and successful rearing of *Telenomus heliothidis* on nonhosts by use of a host-recognition kairomones. Entomophaga 27: 365—70.
- Thompson, S. N. 1975 Defined meridic and holidic diets and aseptic feeding procedures for artificially rearing

the endoparasitoid *Exeristes roborator*. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 68: 220—6.

Thompson, S. N. 1980 Artificial culture techniques for rearing larvae of the chalcidoid parasite, *Brachymeria intermedia*. *Ent. Exp. & Appl.* 27: 133—43.

Yazgan, S. 1972 A chemically defined synthetic diet and larval nutritional requirements of the endoparasitoid *Isoplectis conquistator* (Hymenoptera). *J. Insect Physiol.* 18: 2123—41.

## IN VITRO CULTURE OF THE ECTOPARASITOID *BRACON GREENI* ASHMEAD

XIE ZHONG-NENG   LI LI   XIE YI-QUAN

(Guangdon Institute of Entomology, Guangzhou)

The larval ectoparasitoid *Bracon greeni* Ashmead is an effective biological agent for controlling the major insect pest *Eublemma amabilis* Moore of the lac insect *Laccifer lacca* Kerr. It has been reared *in vitro* from egg to adult on artificial diets composed of pupal haemolymph of *Antheraea pernyi* Guérin-Ménéville, chicken egg yolk and cow milk suspension (1g milk powder in 10 ml water), added with gentamycin sulfate (400—600 i.u. per ml of diet). The diets were encapsulated inside parafilm stretch wrappers to form the “artificial hosts”. The survival rate of larvae was 85—91%, pupation rate 70—71%, and adult emergence rate 67—69%. The egg stage lasted 20—22 hours; duration of larval development was 3—4 days and the prepupa and pupa developed for 7—8 days. The total preimaginal development required 11—13 days at  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ . The body lengths of the reared adults measured 3.2—4.5 mm in female and 2.5—4.0 mm in male. The sex ratio was about 1:3 (♀:♂). It was found that the ectoparasitoids reared *in vitro* developed with similar rate as those on the larvae of its natural host, and they had bigger body size but inferior female ratio. The mated females produced viable offsprings of both sexes on the greater wax moth larvae as well as on the artificial hosts. The present Work indicates that *B. greeni* can be mass produced *in vitro* after some improvements in the rearing technique.

**Key words** *Bracon greeni* Ashmead—*Eublemma amabilis* Moore—*in vitro* culture—artificial diet—artificial host